

09/701558

525 Rec'd PCT/PTO 05 DEC 2000

DOCKET NO. MUR-024-USA-PCT

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re Application of:
N. Higo, et al.

Serial No.: Corresponding to PCT/JP99/02623
filed May 19, 1999

Filed: Concurrently herewith

For: Iontophoresis Device Structure And
Method For Detecting Physiological Substance

CLAIM FOR PRIORITY

Honorable Commissioner of
Patents and Trademarks
Washington, D.C. 20231

Sir:

The benefit of the filing dates of the following prior foreign application filed in Japan is hereby requested for the above identified application and the priority provided in 35 U.S.C. 365 is hereby claimed:

Japanese patent application No. 10/174024 filed June 5, 1998

In support of this claim, a certified copy of said original foreign application was filed with the International Bureau on July 9, 1999 as evidenced by form PCT/IB/304, which is attached.

It is requested that the file of this application be marked to indicate that the requirements of 35 U.S.C. 365 have been fulfilled and that the Patent and Trademark Office kindly acknowledge receipt of these documents.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

DOCKET NO. MUR-024-USA-PCT

Respectfully submitted,

TOWNSEND & BANTA



Donald E. Townsend
Reg. No. 22,069



Donald E. Townsend, Jr.
Reg. No. 43,198

TOWNSEND & BANTA
1225 Eye Street, N.W.
Suite 500
Washington, D.C. 20005
(202) 682-4727

Date: December 5, 2000

THIS PAGE BLANK (USPTO)

09/0701558

RH

Eku

PCT/JP 99/02623

日本国特許庁

PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

19.05.99

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日

Date of Application:

1998年 6月 5日

出願番号

Application Number:

平成10年特許願第174024号

出願人

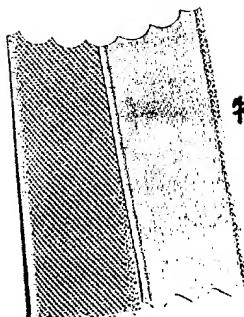
Applicant (s):

久光製薬株式会社

REC'D 09 JUL 1999
WIPO PCT

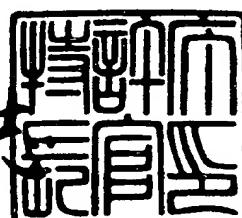
PRIORITY
DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

1999年 6月 17日



特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

佐佐木 建太



出証番号 出証特平11-3041177

【書類名】 特許願
【整理番号】 HM980003
【提出日】 平成10年 6月 5日
【あて先】 特許庁長官殿
【国際特許分類】 A61B 5/00
【発明の名称】 イオントフォレーシステバイス構造体及び生体内成分の検出方法
【請求項の数】 15
【発明者】
【住所又は居所】 茨城県つくば市観音台1-25-11 久光製薬株式会社 筑波研究所内
【氏名】 肥後 成人
【発明者】
【住所又は居所】 茨城県つくば市観音台1-25-11 久光製薬株式会社 筑波研究所内
【氏名】 安達 博敏
【発明者】
【住所又は居所】 茨城県つくば市観音台1-25-11 久光製薬株式会社 筑波研究所内
【氏名】 葛巻 紀行
【特許出願人】
【識別番号】 000160522
【氏名又は名称】 久光製薬株式会社
【代理人】
【識別番号】 100090583
【弁理士】
【氏名又は名称】 田中 清
【代理人】
【識別番号】 100098110

【弁理士】

【氏名又は名称】 村山 みどり

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【書類名】 明細書

【発明の名称】 イオントフォレーシスデバイス構造体及び生体内成分の検出方法

【特許請求の範囲】

【請求項1】 イオントフォレーシス用の電極と、イオントフォレーシスにより生体内成分を吸着するよう構成された検出用部材と、前記電極と前記検出用部材の間に配置された導電層とを含むことを特徴とするイオントフォレーシスデバイス構造体。

【請求項2】 前記検出用部材が多孔質膜からなることを特徴とする請求項1記載のイオントフォレーシスデバイス構造体。

【請求項3】 前記検出用部材の蛋白質吸着能が 1 cm^2 当たり $20\text{ }\mu\text{g}$ 以上であることを特徴とする請求項1又は2記載のイオントフォレーシスデバイス構造体。

【請求項4】 前記検出用部材の厚さが $5\sim200\text{ }\mu\text{m}$ であることを特徴とする請求項1乃至3のいずれかに記載のイオントフォレーシスデバイス構造体。

【請求項5】 前記検出用部材が生体組織、血液及び細胞のうちの少なくとも一つを吸着するよう構成されたことを特徴とする請求項1乃至4のいずれかに記載のイオントフォレーシスデバイス構造体。

【請求項6】 前記検出用部材が生体組織、血液及び細胞のうちの少なくとも一つから分泌される物質を吸着するよう構成されたことを特徴とする請求項1乃至4のいずれかに記載のイオントフォレーシスデバイス構造体。

【請求項7】 前記分泌される物質がペプチド又は蛋白質であることを特徴とする請求項6記載のイオントフォレーシスデバイス構造体。

【請求項8】 前記検出用部材が腫瘍関連抗原、腫瘍マーカー、又はその他の腫瘍関連物質を吸着するよう構成されたことを特徴とする請求項1乃至4のいずれかに記載のイオントフォレーシスデバイス構造体。

【請求項9】 前記腫瘍関連抗原、腫瘍マーカー、又はその他の腫瘍関連物質が、メラノーマ細胞、メラノーママーカー（NK1/C3）、メラノーママーカー（PAL/M1）、メラノーママーカー（S-100 α 及び β ）、癌胎児性

抗原（C E A）、神経芽腫（C E 7）、神経芽腫（A D 2）、マリグニン、 α -胎児性蛋白（A F P）、ペプシノーゲン、塩基性胎児蛋白（B F P）、肺癌胎児性抗原（P O A）、胎児性プレアルブミン（E P A）、炭水化物抗原（C A 1 9 - 9）、肺癌関連抗原（C A 5 0）、癌抗原（C S L E X - 1）、肺癌関連抗原（シアリルS S E A - 1）、肺癌関連抗原（D u p a n - 2）、癌抗原（N C C - S T - 4 3 9）、炭水化物抗原（シアリルT n）、癌抗原（C A 7 2 - 4）、癌抗原（K M O - 1）、肺癌関連抗原（S P a n - 1）、炭水化物抗原（C A 1 2 5）、癌抗原（C A 1 5 - 3）、偏平細胞癌（S C C）、セミノ蛋白（ γ -S m）、前立腺特異抗原（P A）、フェリチン、組織ポリペプチド抗原（T P A）、腫瘍関連抗原（C Y F R A - 2 1 - 1）、免疫酸性蛋白（I A P）、免疫抑制酸性蛋白、前立腺酸性蛋白（P A P）、ニューロン特異的エノラーゼ（N S E）、絨毛性ゴナドトロピン（h C G）、酵素、アミノ酸、ムコ多糖類を含む粘液、ドーパ、ドーパミン及びホルモン類からなる群から選択されるものであることを特徴とする請求項8記載のイオントフォレーシスデバイス構造体。

【請求項10】 くぼみを有するバッキングと、前記バッキングのくぼみ底部に配置された電極と、前記バッキングのくぼみ上部に配置された生体内成分検出用部材と、前記電極と前記生体内成分検出用部材間に配置された導電層とを備えたことを特徴とするイオントフォレシス用アプリケーター。

【請求項11】 前記生体内成分検出用部材に対応する部分に開口を有する粘着性シートを備えたことを特徴とする請求項10記載のイオントフォレシス用アプリケーター。

【請求項12】 イオントフォレシスを用いて生体内成分を検出用部材に吸着させ、前記検出用部材に吸着された生体内成分を免疫学的方法または化学的方法により検出することを特徴とする生体内成分の検出方法。

【請求項13】 前記検出が前記生体内成分の染色または測定により行われることを特徴とする請求項12記載の生体内成分の検出方法。

【請求項14】 イオントフォレシスにより生体内成分を吸着するよう構成された検出用部材、デバイス用電極、及び前記デバイス用電極と検出用部材の間に配置された導電層を含むイオントフォレシスデバイスと、前記デバイス用

電極に対応して設けられる対照電極と、前記デバイス用電極と前記対照電極との間を電気的に接続する電源とを備えたことを特徴とするイオントフォレーシステム。

【請求項15】 前記検出用部材は、平均孔径0.001～20μmの多孔質構造を有することを特徴とする請求項14記載のイオントフォレーシステム。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、医療分野において診断又は検査に用いるのに好適なイオントフォレーシステム構造体及び生体内成分の検出方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

従来より、病気の診断には種々の方法が使用されている。例えば、血液生化学検査法では、侵襲的に採血して、血液成分、各種診断マーカー、細胞等を分析することにより診断し、病理検査法では、侵襲的に癌組織等の生体組織検査をおこなったり、細胞レベルの異常の有無を検討し、また、採尿、採便、蓄唾等により採取した尿、便、唾液等を分析することによる検査が行われている。これらの方では、医師、看護婦、臨床検査技師が注射器で血液等を採取したり、鋭利なメスにて生体組織を切り取ったり、また特殊容器等に患者の協力を得て尿等を採取したりしているのが現状である。

【0003】

尚、腫瘍、特に悪性黒色腫は、予後が極めて悪く、浸潤破壊能及び転移能とも極めて高い疾病であり、一旦転移または再発すると、その治療は困難を極めるため、新しい治療手段の開発が待たれている。この悪性黒色腫の確定診断は、外科的に切除した組織中のメラノーマ細胞等の腫瘍マーカーの存在の有無を検査することにより行われている。その検査方法としては、手術直後に病巣剖面より作成したスタンプ・スマアを用いるスタンプ蛍光法及び病巣組織を用いた免疫染色法が用いられている。組織染色には、各種のメラノーママーカー抗体（抗メラノ-

マ抗体)が使用されている。

【0004】

しかしながら、このように細胞を外科的に切除することは、患者に痛みや恐怖心を与えるばかりか、腫瘍の転移の危険性を増すこととなるので望ましくない。また、試料の採取は、特定の場所において、熟練した医師により行わなければならぬため、集団検診等でのスクリーニング法には適していない。尚、血清中及び尿中の5-S-システィニルドーパ等のドーパや腫瘍マーカー等を測定する方法も症状が悪化した段階における疾病の進行度や転移の有無等の病状の指標となるものの、早期診断法としては適当でない。このような状況下において、従来の検査において必要とされていた高度の熟練と経験をさほど必要とせず、しかも安全に、早期に腫瘍等の診断を行うことができる方法の開発が待たれている。

【0005】

一方、従来より、貼付剤として、サリチル酸系の消炎鎮痛剤やニトログリセリン等の狭心症治療剤等の医薬品を含有する医療用貼付剤、刺激性試験のためのパッチテスト及びアレルギー性皮膚炎等の感作物質を特定するためのアレルゲン検出用貼付剤が知られている。特開昭63-106558号公報には、粘着性物質に皮膚角質層を付着せしめた後、固着剤を塗布した透明板に張り付け、次いで有機溶媒に浸漬して前期粘着物質を溶解して除去することにより、前記角質層を前記透明板に固定することからなる角質層標本の作成方法が開示されている。また、同じ出願人による特開昭63-113358号公報には、前記角質層標本を使用して角質層の状態を検査する方法が開示されており、そこで実施されている検査は主に角質層の物性を測定する検査である。さらに、同じ出願人による特開平4-121664号公報には、角質層を粘着性フィルムにより剥離、転写し、次いで有機溶媒により洗浄して、角質層中に含まれる脂質を抽出し、その脂質を分析する方法が開示されている。

【0006】

しかしながら、前記特開昭63-106558号公報及び同63-113358号公報による方法では、剥離された角質細胞を固定するために、有機溶媒等で粘着層を溶解する必要がある。このため、有機溶媒に対し不安定な物質について

は検査することができない。また、角質層脂質等のように有機溶媒により抽出されるものは角質層標本中に存在しないことになり、角質層を皮膚に存在していた状態と同じ状態で検査することは不可能である。また、前記特開平4-121664号公報の方法では、有機溶媒により抽出されないものは分析することができない。

【0007】

また特開平7-76518号公報には、粘着性テープ等で剥離固定した組織、細胞若しくはその他の物質または担体に吸着固定された組織若くは細胞から分泌される物質等を、免疫学的方法等で測定して病気を診断する方法が開示されている。この方法は、腫瘍、特に悪性黒色腫の初期において、組織等の外科的切除を必要とせず、しかも患者に痛み、恐怖心等を与えることなく生体組織、細胞、あるいはそれらからの分泌物等を採取して、腫瘍を診断することができる。

【0008】

一方、イオントフォレシスは外的刺激に電気を用いた経皮吸収促進システムで、その原理は主に通電により陽極および陰極間に生じた電界中を正にチャージした分子が陽極から出て陰極へ、負にチャージした分子が陰極から出て陽極へ移動する力に基づいて、薬物分子の皮膚バリアー透過を促進するものである。〔ジャーナル・オブ・コントロールド・リリース (Journal of Controlled Release) 18巻、1992年、213-220頁; アドバンスト・ドラッグ・デリバリー・レビュー (Advanced Drug Delivery Review) 9巻、1992年、119頁; ファルマシュウティカル・リサーチ (Pharmaceutical Research) 3巻、1986年、318-326頁参照〕。

【0009】

このようなイオントフォレシスを利用した診断への応用例としては、囊胞性纖維症の診断を目的としたピロカルピンの投与が知られている ((J. Pediatr) 69巻、1966年、285頁; (South Med. J.) 59巻、1966年、197頁; (Arch. Dis. Child) 40巻、1965年、684頁)。また近年、糖尿病患者の自己血糖測定のために、非侵襲的

なイオントフォレシスを用いた血液中のグルコースをモニタリングする技術が提案されている（国際公開番号WO96/00110号公報、ファルマシュウェイカル・リサーチ（Pharmaceutical Research）12巻、1995年、1869-1873頁、ジャーナル・オブ・コントロールド・リリース（Journal of Controlled Release）38巻、1996年、159-165頁、同誌、42巻、1996年、29-36頁参照）。この方法は、イオントフォレシスによって生じるコンベクティブ・フローにより、血液から漏出するグルコースをデバイス中に設置した溶液層に移動させてサンプリングするものである。

【0010】

【発明が解決しようとする課題】

従来の方法のうち、粘着性テープ等を用いる方法では、特に生体組織および細胞からの分泌物、すなわちペプチドやタンパクなどの高分子物質を採取する場合には、長時間の貼付が必要でありコンプライアンスの点で満足とは言えない。さらに、長時間の貼付による皮膚刺激性も懸念され、これは患者に違和感や不快感を与えることになる。また、この方法のように測定物質の受動的拡散のみに依存する場合、個体間のバラツキが大きくなり、誤った診断をする原因となることから、性能面でもまだ十分とは言えない。

【0011】

また従来において、イオントフォレシスを用いる方法では、低分子物質の検出は可能であるが、ペプチドやタンパクなどの高分子物質を検出する場合には、測定物質の回収のために複雑な操作を必要とするばかりでなく、それらがサンプリング溶液中で希釈されることから測定感度においても実用性に乏しい。

【0012】

このように従来は、目的物質等を迅速かつ高感度に検出し得るデバイスや検出方法は存在しなかった。そのため、病気の種類によっては、短時間に正確な診断を行うことができないという問題があった。

従って本発明の目的は、生体内成分を迅速かつ高感度に検出し得るイオントフォレシスデバイス構造体及び検出方法を提供することにある。

【0013】

【課題を解決するための手段】

本発明者等は、上記目的を達成するために、イオントフォレーシステバイスの構造について銳意研究を行なった。その結果、デバイス構造として、生体内成分を好適に吸着するよう構成された検出用部材を用いることにより、上述の課題を解決できることを見出した。

具体的には、例えば、腫瘍等の病気の診断の場合、腫瘍等のマーカーとなる蛋白質、ペプチド、ヌクレオチド等に高い吸着性を示す検出用部材を配した診断用デバイス構造体を用いてイオントフォレーシスを行う。そして、生体内成分を電気的駆動力により検出用部材に吸着固定させ、その後デバイスから検出用部材を剥離し吸着固定された腫瘍関連抗原、腫瘍マーカーまたは腫瘍関連物質を免疫学的方法または化学的方法等により測定する。

【0014】

即ち本発明に係るイオントフォレーシステバイス構造体は、イオントフォレーシス用の電極と、イオントフォレーシスにより生体内成分を吸着するよう構成された検出用部材と、前記電極と検出用部材の間に配置された導電層とを含むものである。ここで検出用部材は、例えば、多孔質膜からなり、その蛋白質吸着能は 1 cm^2 当たり $20 \mu \text{g}$ 以上という高い吸着性を示すものである。また、検出用部材の厚さは $5 \sim 200 \mu \text{m}$ とするのが望ましい。

また検出用部材は、生体内成分として、生体組織、血液及び細胞のうちの少なくとも一つを吸着するよう構成される。あるいは、生体組織、血液及び細胞のうちの少なくとも一つから分泌される物質を吸着するよう構成される。ここで分泌される物質は、例えばペプチド又は蛋白質である。

【0015】

さらに検出用部材は、腫瘍関連抗原、腫瘍マーカー、又はその他の腫瘍関連物質を吸着するよう構成される。ここで腫瘍関連抗原、腫瘍マーカー、又はその他の腫瘍関連物質とは、メラノーマ細胞、メラノーママーカー（N K I / C 3）、メラノーママーカー（P A L / M 1）、メラノーママーカー（S - 1 0 0 α 及び β ）、癌胎児性抗原（C E A）、神経芽腫（C E 7）、神経芽腫（A D 2）、マ

リグニン、 α -胎児性蛋白（A F P）、ペプシノーゲン、塩基性胎児蛋白（B F P）、膵癌胎児性抗原（P O A）、胎児性プレアルブミン（E P A）、炭水化物抗原（C A 1 9 - 9）、膵癌関連抗原（C A 5 0）、癌抗原（C S L E X - 1）、膵癌関連抗原（シアリルS S E A - 1）、膵癌関連抗原（D u p a n - 2）、癌抗原（N C C - S T - 4 3 9）、炭水化物抗原（シアリルT n）、癌抗原（C A 7 2 - 4）、癌抗原（K M O - 1）、膵癌関連抗原（S P a n - 1）、炭水化物抗原（C A 1 2 5）、癌抗原（C A 1 5 - 3）、偏平細胞癌（S C C）、セミノ蛋白（ γ -S m）、前立腺特異抗原（P A）、フェリチン、組織ポリペプチド抗原（T P A）、腫瘍関連抗原（C Y F R A - 2 1 - 1）、免疫酸性蛋白（I A P）、免疫抑制酸性蛋白、前立腺酸性蛋白（P A P）、ニューロン特異的エノラーゼ（N S E）、絨毛性ゴナドトロピン（h C G）、酵素、アミノ酸、ムコ多糖類を含む粘液、ドーパ、ドーパミン及びホルモン類からなる群から選択されるものである。

【0016】

本発明に係るイオントフォレーシス用アプリケーターは、くぼみを有するバッキングと、バッキングのくぼみ底部に配置された電極と、バッキングのくぼみ上部に配置された生体内成分検出用部材と、電極と生体内成分検出用部材間に配置された導電層とを備えて構成される。生体内成分検出用部材に対応する部分には、開口を有する粘着性シートが備えられる。

本発明に係る生体内成分の検出方法では、イオントフォレーシスを用いて生体内成分を検出用部材に吸着させ、この検出用部材に吸着された生体内成分を免疫学的方法または化学的方法により検出する。この検出は、生体内成分の染色または測定により行われる。

【0017】

本発明に係るイオントフォレーシスシステムは、イオントフォレーシスにより生体内成分を吸着するよう構成された検出用部材、デバイス用電極、及びデバイス用電極と検出用部材の間に配置された導電層を含むイオントフォレーシスデバイスと、デバイス用電極に対応して設けられる対照電極と、上述のデバイス用電極と対照電極との間を電気的に接続する電源とを備えて構成される。ここで検出

用部材は、例えば、平均孔径0.001～20μmの多孔質構造を有するものである。

これにより本発明のイオントフォレーシスデバイスは、生体内成分を迅速かつ高感度に検出することができ、各種病気の診断に極めて有用である。

【0018】

【発明の実施の形態】

以下、図面を参照しながら本発明を詳細に説明する。

本発明に係るイオントフォレーシスデバイス構造体は、イオントフォレーシス用電極と、イオントフォレーシスにより生体内成分を吸着するよう構成された検出用部材と、イオントフォレーシス用電極と検出用部材の間に配置された導電層とを含むものである。そして、皮膚または粘膜に対して適用可能な種々のアプリケーターを用いて、イオントフォレーシスにより移動した生体内成分を免疫学的方法または化学的方法により検出する。

【0019】

図1は、本発明に係るイオントフォレーシスデバイス構造体を備えたアプリケーターの一例を示す断面図である。図のように、バッキング1は円筒状のくぼみを形成している。バッキング1としては、例えばポリプロピレン製で内径が18mmのものが用いられる。バッキング1の底部には、円形に打ち抜いた箔型銀電極2が設けられる。箔型銀電極2は、例えば直径が10mm、厚さが0.04mmである。バッキング1のくぼみ部分には、導電層3として電解質層が配置される。また箔型銀電極2には、電源と接続可能なようにバッキング1の中心部に開けた小孔を介して接続端子4が取り付けられている。このようにして構成されたデバイスに、生体内成分を吸着するよう構成された検出用部材6を配置する。検出用部材6の材料等については後で詳述するが、例えば直径20mm、厚さ0.016mmの親水性ナイロン膜が用いられる。検出用部材6は、予め、その直径よりも若干小さい直径18mmの開口を有する粘着性シート5に貼付されており、イオントフォレーシス開始時に、検出用部材6が皮膚又は粘膜に接触するようにして用いられる。

【0020】

本発明に係るイオントフォレーシスデバイス構造体の形態は、いずれの形態であってもよく、例えば、長方形、丸形、橢円形、正方形、ハート形、ヒシ形等を挙げることができるが、これらに限定されない。また、大きさ、色も実用性を伴うものであれば特に限定されない。

【0021】

本発明におけるイオントフォレーシスの通電形式は、デバイス構造体の電極とこれと対応して設けられる対照電極との間に直流電圧を印加し、通電することにより行うことができる。電源としては、連続直流電圧またはパルス直流電圧を印加し得るものがよいが、より好ましいものとして方形型パルス直流電圧を印加し得る電源が用いられる。パルス直流電圧の周波数は、好ましくは0.1から200kHz、より好ましくは1から100kHz、特に好ましくは5から80kHzの範囲より適宜選択される。パルス直流電圧のオン／オフ(ON/OFF)の比は、1/100から20/1、好ましくは1/50から15/1、より好ましくは1/30から10/1の範囲より適宜選択される。通電時間は連続通電で24時間以下、さらに12時間以下、特に6時間以下が好ましい。

【0022】

このようなイオントフォレーシス装置において、例えば、検出物質が等電点4付近のタンパクであれば、皮膚や粘膜などの生体内においては負の電荷を持ち、イオントフォレーシスの適用においては陽極側に移動することになる。よって、検出用デバイスは陽極側に配置することになる。そして、イオントフォレーシスデバイスに通電後、検出用部材に吸着固定された生体組織、血液および細胞、若くはこれらから分泌される物質等を免疫学的方法または化学的方法等により検出する。

【0023】

本発明に係るデバイス構造体において、その構造体を補強する方法、すなわちバッキングは、電気的な絶縁体もしくは絶縁処理を施したものであれば特に限定されないが、塩化ビニル、ポリエチレン、ポリオレフィン、ポリエステル、ポリウレタン、ポリビニルアルコール、塩化ビニリデンポリアミド及びエチレン-酢酸ビニル共重合体等のプラスチック性フィルムまたはアルミニウムを含むラミネ

ートフィルム等を用いたものが好適に使用される。パッキングの厚さは、特に限定されないが、約 $1 \mu\text{m}$ ～ $5000 \mu\text{m}$ 、特に約 $10 \mu\text{m}$ ～ $600 \mu\text{m}$ であることが好ましい。

【0024】

本発明において使用される電極は、通常イオントフォレーシスにおいて使用できる導電性の電極材料であれば特に限定されない。このような導電材料としては、例えば、銀、塩化銀、アルミニウム、亜鉛、銅、鉄、カーボン、白金、チタン、ステンレス等が挙げられる。中でも、銀または銀・塩化銀は抵抗値等の電気特性もよく、ペースト材料を用いて製造すれば安価で生産性も高い。

【0025】

本発明におけるデバイス構造体中の導電層に関しては、特に限定されない。一般に、生理的に皮膚あるいは粘膜等の貼付部位への刺激性が少ない成分組成及びpH範囲で使用することが望ましいが、イオントフォレーシスにより検出物質を診断用デバイスに移動させるために、検出物質、すなわち、マーカー蛋白質、ペプチド等の等電点を配慮した電解質組成及びpHの使用がより望ましい。さらに本発明に使用される導電層の保持方法として、マトリックス型やリザーバー型等は特に限定されるものではない。このようなマトリックス型の導電性ゲルとしては、例えば寒天、ゼラチン、キサンタンガム、ローカストビーンガム、カラギーナン、ジェランガム、タマリンドガム、カードラン、ペクチン、ファーセレラン、グアーガム、アルギン酸、アルギン酸ナトリウム、タラガム、カラヤガム、セルロース、その誘導体類等、ポリアクリル酸、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、ポリイソブチレン等の合成高分子類および共重合体等が挙げられ、これらは単独または2種類以上の組み合わせで用いられる。さらにリザーバー型の電解質保持手段としては、種々の多孔質または毛細管構造を有する部材（以下、単に、多孔質体という場合がある）が用いられる。このような多孔質体としては、有機多孔質体（例えば、セルロースなどの天然繊維、セルロースアセテートなどの半合成繊維、ポリエチレン、ポリプロピレン、ナイロン、ポリエチレンなどの合成繊維などで形成された繊維集合体、紙などのシート、織布や不織布などの布、多孔質ポリプロピレン、多孔質ポリスチレン、多孔質ポリメタクリル酸

メチル、多孔質ナイロン、多孔質ポリスルファン、多孔質フッ素樹脂等の多孔質合成樹脂、スポンジ等の吸水性樹脂等) 及び無機多孔質体(例えば、セラミック多孔体、多孔質又は毛細管構造を有するセラミック等)などが用いられる。これらの各保持手段には、必要に応じて電解質、pH調節剤、安定化剤、増粘剤、湿润剤、界面活性剤、溶解補助剤等を添加、含浸させてもよい。

【0026】

本発明に係るデバイス構造体の検出用部材は、生体組織、血液あるいは細胞またはこれらから分泌される物質等を吸着固定させることができるものであり、電場をかけた際にもその吸着力が維持されることがより好ましい。また、検出用部材は、親水性であり、蛋白質、ペプチド等に対して高い吸着性質を持ち、吸着固定した物質を検出するために使用する水、アルコール、ホルムアルデヒド等に対して安定で、それら溶液中において検出用部材から脱離、溶解しないものであることが望ましい。このような検出用部材としては特に限定されないが、蛋白質、ペプチド等に高吸着能の多孔質または毛細管構造を有する種々の親水性多孔質体または親水処理を施した疎水性多孔質体が用いられる。

【0027】

好ましい検出用部材としては、有機多孔質体(例えば、セルロース等の天然繊維、ニトロセルロースやセルロースアセテート等の半合成繊維、ポリエチレン、ポリプロピレン、ナイロン、ポリエステル等の合成繊維等で形成された繊維集合体、紙等のシート、織布や不織布などの布、多孔質ポリプロピレン、多孔質ポリスチレン、多孔質ポリメタクリル酸メチル、多孔質ナイロン、多孔質ポリスルファン、多孔質フッ素樹脂、多孔質ポリビニリデンジフロライド等の多孔質合成樹脂等)を挙げることができる。

【0028】

本発明で用いられる検出用部材は、蛋白質、ペプチド等に対して高い吸着性を示し、その吸着量も大きいという特色がある。検出用部材に対する蛋白質の吸着量としては 1 cm^2 当たり $20\text{ }\mu\text{g}$ 以上であること、好ましくは 1 cm^2 当たり $40\text{ }\mu\text{g}$ 以上であること、さらに好ましくは 1 cm^2 当たり $50\text{ }\mu\text{g}$ 以上であることが望ましい。なお、蛋白質の吸着量は、代表的な蛋白質を用いて簡便に測定で

きる慣用の方法、例えば¹²⁵Iで標識した牛血清アルブミンあるいはヒトインスリンをトレーサー量含有する溶液（蛋白質濃度として1mg/mlリン酸塩緩衝液）400μlに1.3cm²の検出用部材を室温下、90分間浸漬した後、リン酸塩緩衝液で洗浄し、残存放射活性を測定することにより算出することができる。また、目的とする検出物質を用いて吸着量を算出してもよい。

【0029】

これら検出用部材は多孔質構造を有し、その細孔径は、検出物質の保持量や目的物質の測定において検出性能を損なわなければ、生体に当接可能な範囲から選択でき、例えば平均孔径0.001~20μm、好ましくは0.01~10μm、さらに好ましくは0.01~1μm程度である。

【0030】

また、検出用部材の厚みは、検出物質の保持量や目的物質の測定において検出性能を損なわなければ、生体に当接可能な範囲から選択でき、約0.1~500μm、好ましくは約1~300μm、さらに好ましくは約5~200μm程度が望ましい。

【0031】

次に、本発明に係る検査方法について説明する。本発明のデバイス構造体により、検出用部材に吸着固定される生体組織、血液、あるいは細胞、またはそれらから分泌される物質は、腫瘍関連抗原、腫瘍マーカーまたはその他の腫瘍関連物質等であり、この検出用部材を免疫学的方法または化学的方法により染色あるいは測定することにより、腫瘍等の診断が可能となる。本発明のデバイス構造体及び検査方法により検出することができる腫瘍の例としては、皮膚癌、口腔癌、乳癌及び直腸癌等を挙げることができる。皮膚癌の例としては、悪性黒色腫、基底細胞癌、偏平上皮癌等を挙げることができ、口腔癌の例としては、舌癌、頬粘膜癌、喉頭癌等を挙げることができる。

【0032】

また、上記の腫瘍関連抗原、腫瘍マーカーまたその他の腫瘍関連物質は、メラノーマ細胞、メラノーママーカー（NK1/C3）、メラノーママーカー（PA L/M1）、メラノーママーカー（S-100α及びβ）、癌胎児性抗原（CE

A)、神経芽腫(CE7)、神経芽腫(AD2)、マリグニン、 α -胎児性蛋白(AFP)、ペプシノーゲン、塩基性胎児蛋白(BFP)、肺癌胎児性抗原(POA)、胎児性プレアルブミン(EPA)、炭水化物抗原(CA19-9)、肺癌関連抗原(CA50)、癌抗原(CSLEX-1)、肺癌関連抗原(シアリルSSEA-1)、肺癌関連抗原(Dupan-2)、癌抗原(NCC-ST-439)、炭水化物抗原(シアリルTn)、癌抗原(CA72-4)、癌抗原(KMO-1)、肺癌関連抗原(SPan-1)、炭水化物抗原(CA125)、癌抗原(CA15-3)、偏平細胞癌(SCC)、セミノ蛋白(γ -Sm)、前立腺特異抗原(PA)、フェリチン、組織ポリペプチド抗原(TPA)、腫瘍関連抗原(CYFRA-21-1)、免疫酸性蛋白(IAP)、免疫抑制酸性蛋白、前立腺酸性蛋白(PAP)、ニューロン特異的エノラーゼ(NSE)、絨毛性ゴナドトロピン(hCG)、酵素、アミノ酸(特に、Ala、Glu)、ムコ多糖類を含む粘液、ドーパ、ドーパミン及びホルモン類等の中から選択することができる。

【0033】

メラノーママーカーの検出には、特異性や感度を考慮して、各種のメラノーマ抗体を用いることができる。メラノーマ抗体としては、悪性黒色腫特異性の高い抗体であればいずれのものであってもよい。病変部に貼付することによって、組織、血液、あるいは細胞等を剥離固定または吸着固定した本発明の診断用デバイス構造体は、前記抗体を用いたEIA法、各種標識粒子(ラテックス、金コロイド等)を用いた免疫測定法及び蛍光免疫測定法を用いることにより、組織、血液、あるいは細胞中の腫瘍マーカーの有無を細胞染色の形で検出することができる。また、5-S-システィニルドーパの場合、本発明の診断用デバイス構造体の検出用部材をホルムアルデヒドガスで処理した後、蛍光顕微鏡を用いて検出することができる。その場合、判定は、染色された細胞の色の濃さ及びその数により定性的に行うことができる。また、上記の方法以外のいずれの公知の検出方法を用いても、本発明のデバイス構造体により吸着固定させた組織、細胞、蛋白質、ペプチド等を測定することができる。

【0034】

【実施例】

以下に実験例に基づいて本発明の実施例、比較例をより詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。実験例1～3においては診断用デバイスに使用する検出用部材の蛋白質に対する吸着特性、拡散性及び電場における保持性能について検討した。実験例4では、実験例1～3において診断用デバイスの検出用部材を選択し、乳癌腫瘍マーカーであるヒト癌胎児性抗原（ヒトCEA）に対する免疫学的染色法による染色性能に及ぼす影響について評価した。さらに、実験例5では本発明の診断用イオントフォレーシスデバイスを用いて乳癌腫瘍マーカーであるヒトCEAの皮膚からの検出について検討した。また、牛血清アルブミン（BSA、シグマ社製）、ヒトイインスリン（シグマ社製）及びヒトCEA（生化学工業）を代表的な蛋白質、ペプチド及び診断用マーカー例とした。

【0035】

(実験例1)

診断用デバイスにおける検出用部材の特性を評価するために、各種素材からなる多孔質膜を選択して蛋白質に対する吸着特性を検討した。なお、蛋白質の吸着量は、代表的な蛋白質を用いて簡便に測定できる慣用の方法、¹²⁵Iで標識した牛血清アルブミン（¹²⁵I-BSA、0.827mCi/mg、ICN Pharmaceutical Inc.）あるいはヒトイインスリン（0.912μCi/μg、ICN Pharmaceutical Inc.）をトレーサー量含有する溶液（蛋白質濃度として1mg/mlリン酸塩緩衝液）400μlに1.3cm²の各種検出用部材を室温下、90分間浸漬した後、リン酸塩緩衝液で洗浄し、残存放射活性をγ-カウンターで測定することにより算出した。各実施例及び比較例で用いた検出用部材の素材を以下に示す。

実施例1：ニトロセルロース膜（バイオラッド社製、ニトロセルロースメンブレン）

実施例2：ナイロン膜（ポール社製、バイオダインA）

実施例3：疎水性ポリビニリデンジフルオライド（PVDF）膜（バイオラッド社製；PVDFメンブレン）

比較例1：親水性ポリビニリデンジフルオライド（P V D F）膜（ミリポア社製；親水性デュラポア）

なお、疎水性P V D F膜に関しては、試験前に親水処理として100%メタノールに数秒間浸潤させ、その後リン酸塩緩衝液に浸潤させた。

【0036】

図2は、実施例1～3および比較例1において、診断用デバイスに使用する検出用部材に対する牛血清アルブミン（B S A）の吸着性を示すグラフである（平均士標準偏差、n=3）。また図3は、同様に実施例1～3および比較例1において、診断用デバイスに使用する検出用部材に対するヒトインスリンの吸着性を示すグラフである（平均士標準偏差、n=3）。B S Aの吸着量は、図2に示すように、実施例1では約 $80\text{ }\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、実施例2では約 $50\text{ }\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、実施例3では約 $170\text{ }\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。また、蛋白質低吸着性の部材として用いた比較例1では $5\text{ }\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 以下であった。一方、ヒトインスリンの吸着量は、図3に示すように、実施例1では約 $100\text{ }\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、実施例2では約 $80\text{ }\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、実施例3では約 $150\text{ }\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。また、比較例1では $5\text{ }\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 以下であった。ニトロセルロース、ナイロン、疎水性P V D Fは代表的な蛋白質及びペプチドであるB S Aやヒトインスリンに対して高吸着能を示した。

【0037】

（実験例2）

次に、各種検出用部材における各蛋白質の拡散性を検討した。実験例1と同様な方法で、すなわち ^{125}I で標識したB S Aをトレーサー量含有する溶液（蛋白質濃度として $1\text{ mg}/\text{ml}$ リン酸塩緩衝液） $400\text{ }\mu\text{l}$ に $1\text{. }3\text{ cm}^2$ の各種検出用部材を室温下、90分間浸漬した後、リン酸塩緩衝液で洗浄し、残存放射活性を γ -カウンターで測定した。その後に、さらにリン酸塩緩衝液 1 ml 中に24時間浸潤させ、同様に残存する放射活性を γ -カウンターに測定した。各実施例及び比較例で用いた検出用部材の素材を以下に示す。

実施例4：ニトロセルロース膜（バイオラッド社製、ニトロセルロースメンブレン）

実施例5：ナイロン膜（ポール社製、バイオダインA）

実施例6：疎水性 PVDF 膜（バイオラッド社製；PVDF メンブレン）

比較例2：親水性 PVDF 膜（ミリポア社製；親水性デュラポア）

なお、疎水性 PVDF 膜に関しては上記実験例1と同様に試験前に親水処理を行った。

実施例4～6および比較例2で得られた結果を表1に示す。

【0038】

【表1】

実験例2	初期吸着量 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)		24時間後の残存吸着量 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	
	平均	標準偏差	平均	標準偏差
実施例4	83.97	1.45	80.71	1.47
実施例5	55.16	1.51	50.99	1.77
実施例6	138.56	7.39	137.20	7.33
比較例2	1.22	0.11	0.60	0.14

【0039】

表1は、診断用デバイスに使用する検出用部材に対する牛血清アルブミンの拡散性を示すものである（平均±標準偏差、n=3）。表1に示すように、実施例4、5、6では、それぞれ24時間後の吸着量の減少はほとんど認められず、吸着した蛋白質は溶液中において拡散しないことが確認された。また、比較例2では、初期吸着はほとんど認められなかったが、24時間後には吸着量はさらに減少した。

【0040】

（実験例3）

また、診断用デバイスにおける検出用部材の吸着性能、特に電場における特性について検討した。代表的な蛋白質としてBSA、ヒトインスリン、さらに診断用マーカーのひとつとしてヒトCEAを用いて各種検出用部材の電場における吸着性能について評価した。BSA、ヒトインスリン、ヒトCEAについて、100～150Vでラウリル硫酸ナトリウム（SDS）-ポリアクリルアミドゲル電気泳動（10-25%ポリアクリルアミドグリセントゲルを使用）を行った

。なお、各蛋白質の電気泳動適用量は2.5 μ gとした。電気泳動後のゲルに実施例および比較例に示す転写膜を2枚重ね、さらに3枚目にサポート膜としてとしてニトロセルロース膜を置き150mA、3時間転写した。転写された蛋白質はアミドブラック染色液で染色した。各実施例及び比較例で用いた検出用部材の素材を以下に示す。

実施例7：ニトロセルロース膜（バイオラッド社製、ニトロセルロースメンブレン）

実施例8：ナイロン膜（ポール社製、バイオダインA）

実施例9：疎水性PVDF膜（バイオラッド社製；PVDFメンブレン）

比較例3：親水性PVDF膜（ミリポア社製；親水性デュラポア）

なお、疎水性PVDF膜に関しては上記実験例1及び2と同様に試験前に親水処理を行った。

実施例7～9および比較例3で得られた結果を表2に示す。

【0041】

【表2】

実験例3	BSA			ヒトインスリン			ヒトCEA		
	転写膜 (1)	転写膜 (2)	サポート膜	転写膜 (1)	転写膜 (2)	サポート膜	転写膜 (1)	転写膜 (2)	サポート膜
実施例7	○	△	×	○	△	△	○	×	×
実施例8	○	○	△	○	△	△	△	×	×
実施例9	○	×	×	○	×	×	○	×	×
比較例3	×	×	○	×	×	○	×	×	○

【0042】

表2は、診断用デバイスに使用する検出用部材に対する牛血清アルブミン、ヒトインスリン及びヒト癌胎児性抗原の電場における保持能力を示すものである。表2に示すように、BSA（分子量；約6万）において、実施例7～9では転写膜（1）で主に保持され、転写膜（2）ではわずかに検出される程度であった。ヒトインスリン（分子量；約6000）においても、BSAと同様な傾向を示し、転写膜（1）で主に保持され、転写膜（2）ではわずかに検出される程度であった。さらにヒトCEA（分子量；約18万）においては、転写膜（1）で保持

され、転写膜（2）では検出されなかった。一方、比較例3では電場をかけることで、BSA、ヒトインスリンおよびヒトCEAは転写膜上を通過して全く吸着保持されなかった。このように、ニトロセルロース、ナイロン、疎水性PVDFは何れの蛋白質及びペプチドに対しても高い吸着性、低い拡散性及び電場においても強い保持能力を示した。

【0043】

(実験例4)

次に、ヒトCEAの免疫学的染色に及ぼす各種検出用部材の影響について検討した。それぞれ、ヒトCEA 0.1、1.0、10ngを各種検出用部材に滴下し、乾燥固定後、以下のような免疫学的染色を行った。ヒトCEAを固定した各種検出用部材をブロッキング操作した後、一次抗体溶液（マウス抗ヒトCEAモノクロナール抗体、クローンEB-016、日本バイオテスト研究所）に浸潤した。ほう酸緩衝液で洗浄後、ビオチン標識二次抗体溶液（ビオチン標識抗マウスIgF (ab')₂、DAKO JAPAN Co.、Ltd.）に浸潤した。洗浄後、ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン溶液（生化学工業）に浸し、ほう酸緩衝液で洗浄後、基質としてDAB (diaminobenzidine tetrahydrochloride) を用いて、発色させた。各実施例及び比較例で用いた検出用部材の素材を以下に示す。

実施例10：ニトロセルロース膜（バイオラッド社製、ニトロセルロースメンブレン）

実施例11：ナイロン膜（ポール社製、バイオダインA）

実施例12：疎水性PVDF膜（バイオラッド社製；PVDFメンブレン）

比較例4：親水性PVDF膜（ミリポア社製；親水性デュラポア）

なお、疎水性PVDF膜に関しては上記実験例1及び2と同様に試験前に親水処理を行った。

実施例10～12および比較例4で得られた結果を表3に示す。

【0044】

【表3】

実験例4	ヒトCEAの染色性		
	0.1ng	1ng	10ng
実施例10	△	○	◎
実施例11	△	○	◎
実施例12	×	△	○
比較例4	×	×	×

【0045】

表3は、ヒト癌胎児性抗原（ヒトCEA）に対する免疫学的染色法による染色性能に及ぼす各検出用部材の影響について示すものである。表3に示すように、実施例10、11では1ng以上のヒトCEAが検出可能であった。実施例12では10ng以上のヒトCEAが検出可能であったが、1ng以下では検出されなかった。また、比較例4では全く染色されず、免疫染色の操作過程において流出したものと思われる。

【0046】

(実験例5)

本発明に係るデバイスを用いて、ヒトCEAの皮膚からの検出についてインピトロにおいて検討した。なお、モデル皮膚としてユカタンマイクロピッギングの表皮シートを使用した。角質層側に診断用デバイス（陽極、銀電極）を適用し、真皮側にヒトCEA（ $10\mu\text{g}/\text{ml}$ 、リン酸塩緩衝液（pH=7.4））を添加した不織布層を配置し、さらに対照電極（陰極、塩化銀電極）を当接させた。また、診断用デバイスの検出用部材としては、高吸着能、低拡散性、高保持能及び高染色性を示すナイロン膜（ポール社製、バイオダインA）を用いた。通電は周波数50kHz、オン/オフ比50%のパルス直流電圧で $0.5\text{mA}/\text{cm}^2$ 、1時間行った。免疫学的検出は上記実験例4と同様の染色方法により行った。また、ヒトCEA 0.1、1.0、10ngを検出用部材に滴下し、基準値とした。

実施例13：ヒトCEAを添加し、イオントフォレーシスを施した場合

比較例5：ヒトCEAを添加し、イオントフォレーシスを施さなかった場合

比較例6：リン酸塩緩衝液だけでイオントフォレーシスを施した場合

実施例13および比較例5、6で得られた結果を表4に示す。

【0047】

【表4】

実験例5	染色性	検出されたヒトCEA濃度
実施例13	○	10 ng 以上
比較例5	×	0.1 ng 以下
比較例6	×	0.1 ng 以下

【0048】

表4は、本発明の診断用イオントフォレーシスデバイスを用いてヒト癌胎児性抗原（ヒトCEA）の皮膚から検出されたヒトCEA濃度と染色性について示すものである。また図4（a）～（d）は、検出用部材におけるヒト癌胎児性抗原（ヒトCEA）の免疫学的染色の結果を示す図である。表4および図4（a）～（d）に示すように、実施例13では検出用部材の数箇所にヒトCEAが検出され、基準値と比較して検出量を判定すると10 ng以上のヒトCEAが検出された。ユカタンマイクロピッギング表皮内の毛穴や汗腺等を通してヒトCEAは検出用部材上に誘導されたと思われる染色結果であった。一方、比較例5、6ではヒトCEAは検出されなかった（基準値0.1 ng以下）。このように、皮膚を介した場合においても腫瘍マーカーは検出され、本診断用デバイス構造及び染色方法の有用性が示された。

【0049】

このように、本発明により提供されるイオントフォレーシスを用いたデバイス構造体は、腫瘍等の診断に有用である。本発明のデバイス構造体を使用すると、皮膚又は粘膜表面の外科的な切除または穿刺吸引を必要とせず、患者に痛みを与えることなく容易に短時間で試料を採取することができる。そのため、皮膚癌、口腔癌、乳癌及び直腸癌等の腫瘍の集団検診も可能となる。さらに、外科的処置等

に起因すると考えられる再発例を減少させることができる。また、本発明のデバイス構造体を用いることにより、判断が困難な極初期の腫瘍についても腫瘍関連抗原、腫瘍関連マーカーまたはその他の腫瘍関連物質の有無を確認することができ、腫瘍の早期診断が可能となる。さらに、本発明のデバイス構造体によれば、皮膚又は粘膜表面の組織、細胞、あるいはそれらから分泌される物質またはその他の物質を検出用部材に吸着固定して、それを直接試料として使用することができるので、従来技術に比べて迅速かつ容易に診断を行うことができ、経済的にも有用である。

【0050】

【発明の効果】

本発明によれば、生体内成分を迅速かつ高感度に検出可能なイオントフォレーシステバイス構造体及び検出方法を得ることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】

本発明に係るイオントフォレーシステバイス構造体を備えたアプリケーターの一例を示す断面図である。

【図2】

診断用デバイスに使用する検出用部材に対する牛血清アルブミンの吸着性を示すグラフである。

【図3】

診断用デバイスに使用する検出用部材に対するヒトインスリンの吸着性を示すグラフである。

【図4】

(a)～(d)はそれぞれ検出用部材におけるヒト癌胎児性抗原の免疫学的染色の結果を示す図である。

【符号の説明】

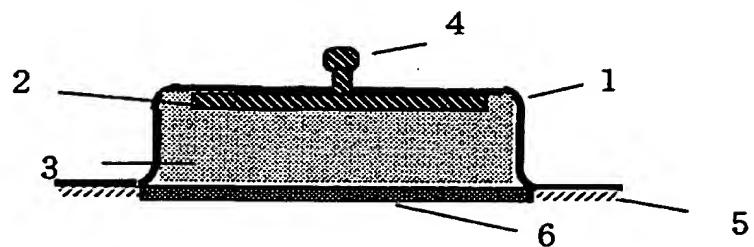
- 1 バッキング
- 2 箔型銀電極
- 3 導電層

- 4 接続端子
- 5 粘着性シート
- 6 検出用部材

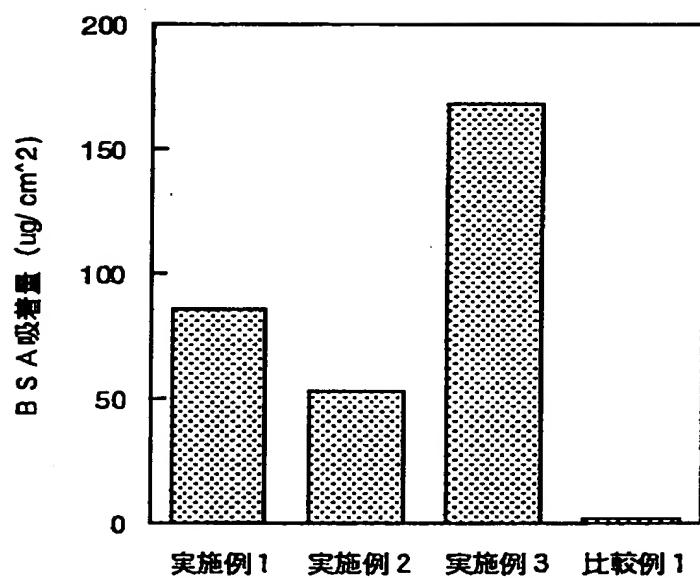
【書類名】

図面

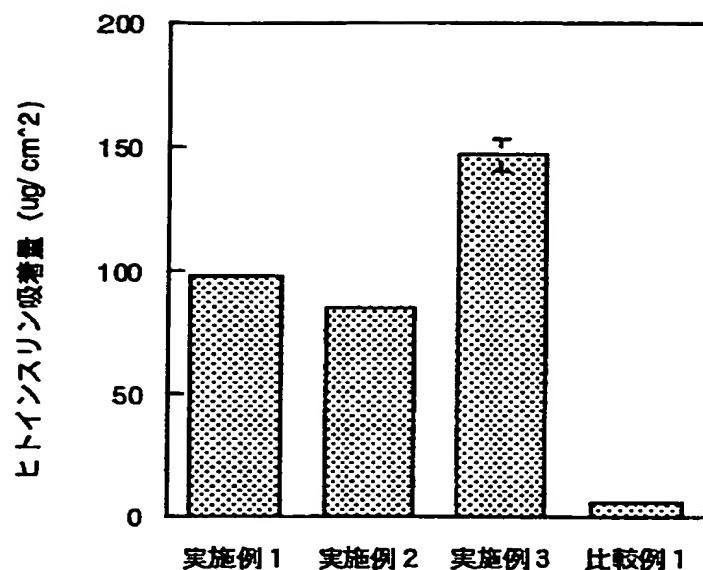
【図1】



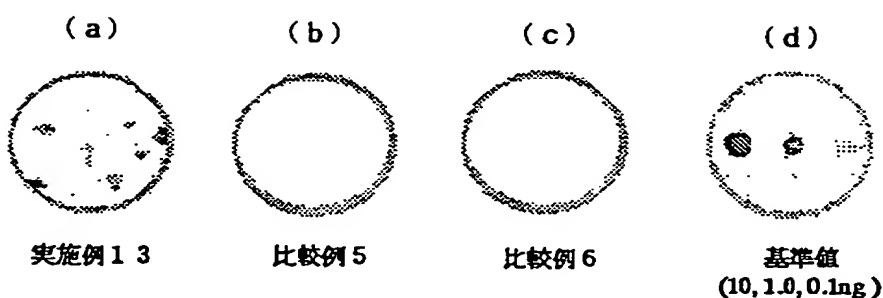
【図2】



【図3】



【図4】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 生体内成分を迅速かつ高感度に検出可能なイオントフォレーシステバイス構造体及び検出方法を提供する。

【解決手段】 円筒状のくぼみを有するバッキング1備えられ、このバッキング1の底部に円形に打ち抜いた電極2が設けられる。バッキング1のくぼみ部分には、導電層3が配置される。また電極2には、電源と接続可能なようにバッキング1の中心部に開けた小孔を介して接続端子4が取り付けられる。このようにして構成されたデバイスに、生体内成分を吸着するよう構成された検出用部材6を配置する。検出用部材6は、予め、その対応する部分に開口を設けた粘着性シート5に貼付される。イオントフォレーシス開始時に、検出用部材6が皮膚又は粘膜に接触するようにして用いられる。

【選択図】 図1

【書類名】 職権訂正データ
【訂正書類】 特許願

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】

【識別番号】 000160522
【住所又は居所】 佐賀県鳥栖市田代大官町408番地
【氏名又は名称】 久光製薬株式会社
【代理人】 申請人
【識別番号】 100090583
【住所又は居所】 東京都渋谷区恵比寿4-20-2 恵比寿ガーデン
テラス弐番館510 村山・田中国際特許事務所
【氏名又は名称】 田中 清
【代理人】 申請人
【識別番号】 100098110
【住所又は居所】 東京都渋谷区恵比寿4-20-2 恵比寿ガーデン
テラス弐番館510 村山・田中国際特許事務所
【氏名又は名称】 村山 みどり

出願人履歴情報

識別番号 [000160522]

1. 変更年月日 1990年 9月13日

[変更理由] 新規登録

住 所 佐賀県鳥栖市田代大官町408番地

氏 名 久光製薬株式会社

THIS PAGE BLANK (USPTO)